## (19) 世界知的所有権機関 国際事務局



## 

(43) 国際公開日 2005年7月14日(14.07.2005)

**PCT** 

## (10) 国際公開番号 WO 2005/063977 A1

(51) 国際特許分類7:

1/68, G01N 33/53, 33/566

(21) 国際出願番号:

PCT/JP2004/019346

C12N 15/00, C12Q

(22) 国際出願日:

2004年12月24日(24.12.2004)

(25) 国際出願の書語:

日本語

(26) 国際公開の言語:

日本語

(30) 優先権データ: 特願 2003-431003

> 2003年12月25日(25.12.2003) л

特願 2004-313910

2004年10月28日(28.10.2004)

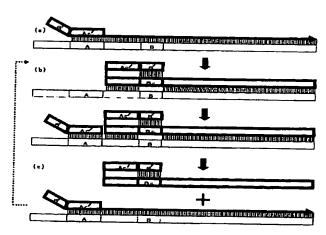
(71) 出願人(米国を除く全ての指定国について): 独立行 政法人理化学研究所 (RIKEN) [JP/JP]; 〒3510198 埼 玉県和光市広沢 2番 1号 Saitama (JP). 株式会社ダナ フォーム (KABUSHIKI KAISHA DNAFORM) [JP/JP]: 〒1080073 東京都港区三田1丁目3番35号 Tokyo (JP). 湧永製薬株式会社 (WAKUNAGA PHARMACEU-TICAL CO., LTD.) [JP/JP]; 〒5320003 大阪府大阪市淀 川区宮原四丁目5番36号Osaka (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 三谷 康正 (MI-TANI, Yasumasa) [JP/JP]; 〒7391105 広島県安芸高田市 甲田町下甲立1624 湧永製薬株式会社内 Hiroshima (JP). 岡 孝紀 (OKA, Takanori) [JP/JP]; 〒7391105 広 岛県安芸高田市甲田町下甲立1624 湧永製薬株 式会社内 Hiroshima (JP). 林崎 良英 (HAYASHIZAKI,

(54) Title: METHOD OF AMPLIFYING NUCLEIC ACID AND METHOD OF DETECTING MUTATED NUCLEIC ACID US-ING THE SAME

(54) 発明の名称: 核酸の増幅法およびこれを利用した変異核酸の検出法



(57) Abstract: A primer set with which a target nucleic acid can be specifically and efficiently amplified. This primer set contains at least two primers enabling the amplification of the target nucleic acid. The first primer contained in the primer set has a sequence (Ac') hybridizable with the 3'-terminal sequence (A) of the target nucleic acid sequence in the 3'-terminal part, and a sequence (B') hybridizable with a sequence (Bc) complementary to a sequence (B), which is located in the 5'-side of the above-described sequence (A) in the target nucleic acid sequence, in the 5'-side of the above-described sequence (Ac'). The second primer contained in the primer set has a sequence (Cc') hybridizable with the 3'-terminal sequence (C) in a sequence complementary to the above-described target nucleic acid sequence in the 3' -terminal part, and a repetitive sequence (D-Dc' ) having two nucleic acid sequences hybridizable with each other on a single chain in the 5' -side of the above-described sequence (Cc' ).

(57) 要約: 本発明は、標的核酸を特異的かつ効率的に増幅しうるプライマーセットに関する。本発明によるプライマーセットは、標的核酸配列を増幅しうる少なくとも二種のプライマーを含んでなるものである。前記プライマー セットに含まれる第一のプライマーは、偉的核酸配列の3'末端部分の配列

/模葉有/

₹.

Yoshihide) [JP/JP]; 〒3050061 茨城県つくば市稲荷前22-8 Ibaraki (JP). 林 利蔵 (HAYASHI, Toshizo) [JP/JP]; 〒1080073 東京都港区三田1丁目3番35号株式会社ダナフォーム内 Tokyo (JP).

- (74) 代理人: 吉武 賢次、外(YOSHITAKE, Kenji et al.); 〒 1000005 東京都千代田区丸の内三丁目 2番3号 富士 ビル323号 協和特許法律事務所 Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (衷示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SB, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

## 添付公開書類:

- 一 国際調査報告書
- 電子形式により別個に公開された明細書の配列表部分、請求に基づき国際事務局から入手可能

2文字コード及び他の略語については、定期発行される 各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語 のガイダンスノート」を参照。

~i .

<sup>(</sup>A) にハイブリダイズする配列 (Ac') を3'末端部分に含んでなり、かつ前記標的核酸配列において前記配列 (A) よりも5'側に存在する配列 (B) の相補配列 (Bc) にハイブリダイズする配列 (B') を前配配列 (Ac') の5'側に含んでなるものであり、前記プライマーセットに含まれる第二のプライマーは、前記標的核酸配列の相補配列の3'末端部分の配列 (C) にハイブリダイズする配列 (Cc') を3'末端部分に含んでなり、かつ相互にハイブリダイズする2つの核酸配列を同一領上に含む折返し配列 (D-Dc') を前配配列 (Cc') の5'側に含んでなるものである。